

JANINA PECONEK, JACEK SZCZAWIŃSKI, MONIKA FONBERG-BROCZEK<sup>1</sup>,  
DOROTA SAWILSKA-RAUTENSTRAUCH<sup>1</sup>, BOŻENA WINDYGA<sup>1</sup>

## ROLA BAKTERII HALOFILNYCH W PROCESIE DEKARBOKSYLACJI HISTYDYNY W RYBACH SOLONYCH

### THE ROLE OF HALOPHILIC BACTERIA IN DECARBOXYLATION OF HISTYNE IN SALTED HERRINGS

Katedra Higieny Żywności Wydziału Weterynaryjnego  
Szkoła Główna Gospodarstwa Wiejskiego  
02-787 Warszawa, ul. Nowoursynowska 166

Kierownik: prof. dr hab. J. Szczawiński

<sup>1</sup>Zakład Badania Żywności i Przedmiotów Użytku, Państwowy Zakład Higieny  
00-791 Warszawa, ul. Chocimska 24

Kierownik: doc. dr hab. K. Karłowski.

*Badano zdolność wytwarzania histaminy w pożywkach bakteryjnych, do których dodawano homogenaty ze śledzi solonych poddanych soleniu mocnemu i przechowywaniu przez 2 miesiące w temp. 20°C. Ze śledzi solonych dostępnych w sprzedaży detalicznej izolowano szczepy bakterii halofilnych, a następnie określano w warunkach modelowych ich zdolności do dekarboksylacji histydyny.*

#### WSTĘP

W ostatnich latach poświęcono wiele uwagi zagadnieniu występowania amin biogennych w żywności, jednak stosunkowo nieliczne prace dotyczą obecności histaminy w rybach solonych [4, 5, 6]. Gajewska i wsp. oznaczali zawartość histaminy i tyraminy w wybranych środkach spożywczych, między innymi w rybach surowych, wędzonych, solonych i marynowanych. W śledziach solonych oraz w śledziach w zalewie octowej i olejowej stwierdzano nieco wyższe poziomy histaminy i tyraminy, niż w rybach surowych i wędzonych. Autorzy ci uważają, że proces dekarboksylacji aminokwasów i wytwarzania amin może przebiegać zarówno pod wpływem tkankowych enzymów endogennych jak i w wyniku działania enzymów pochodzenia bakteryjnego oraz że obecność histaminy w śledziach solonych jest następstwem złej jakości surowca poddanego soleniu lub niewłaściwych warunków jego przechowywania [5].

Zdaniem Sikorskiego w przypadku bezwzględnych bakterii halofilnych odpowiednia ilość soli w podłożu jest warunkiem niezbędnym zarówno do ich wzrostu jak i wykazywania aktywności enzymatycznej [8]. Potwierdzeniem są wyniki prac, głównie badaczy japońskich, którzy stwierdzili wpływ bakterii halofilnych na powstawanie histaminy w produktach solonych [9, 10]. Yatsunami i Echigo [10] badając 133 produkty przygotowane z czerwonych mięśni ryb (makreli, tuńczyka i sardynek) stwierdzili, że aż w 35 produktach występowały bakterie halofilne lub halotolerancyjne. Zdolność wyizolo-

wanych szczepów do tworzenia histaminy sprawdzano po inkubacji bakterii w temperaturze 20°C przez 14 dni w podłożu zawierającym histydynę oraz 10-15% NaCl. O tym, że obecność soli była warunkiem niezbędnym zarówno do wzrostu jak i aktywności enzymatycznej tych bakterii świadczy fakt, że spośród 46 wyizolowanych szczepów (23 halofilnych i 23 halotolerancyjnych) 6 produkowało histaminę w ilości 2-40  $\mu\text{g}$  / 100 ml podłoża, a pozostałe szczepy w ilości 40-100  $\mu\text{g}$  / 100 ml podłoża.

Właściwości bakterii halofilnych wyizolowanych ze śledzi solonych były przedmiotem własnych badań, a uzyskane wyniki zostały opublikowane [1, 7].

Kontrowersyjne poglądy różnych autorów [5, 8] na temat znaczenia bakterii halofilnych w procesie dekarboksylacji histydyny w rybach solonych były inspiracją do podjęcia badań. Celem pracy było określenie częstotliwości występowania drobnoustrojów halofilnych w śledziach solonych, wyizolowanie z nich szczepów bakterii halofilnych oraz sprawdzenie w warunkach modelowych ich zdolności do dekarboksylacji histydyny.

### MATERIAŁ I METODYKA

Materiał do badań stanowiły: próbki śledzi pochodzących z obrotu handlowego i poddanych soleniu w warunkach laboratoryjnych oraz próbki śledzi solonych, pochodzących z obrotu handlowego. W pierwszym etapie doświadczenia śledzie poddano soleniu mocnemu (20% dodatek NaCl) w stojach szklanych, a następnie przechowywano je przez 2 miesiące w pomieszczeniu laboratorium w temperaturze 20°C. W celu sprawdzenia czy w śledziach tych występują drobnoustroje zdolne do dekarboksylacji histydyny posłużono się metodyką opisaną przez *Karnopa* [6], z własną modyfikacją, polegającą na zwiększeniu poziomu NaCl dodawanego do podłoża. Próbki śledzi homogenizowano, a następnie pobierano po 1 ml do dwóch kolbek zawierających bulion odżywczy z dodatkiem 1% chlorowodoru histydyny oraz 8% lub 20% NaCl. Po inkubacji trwającej 8 dni w temperaturze pokojowej oznaczano zawartość histaminy w poszczególnych podłożach metodą spektrofluorymetryczną [2, 3].

Drugi etap doświadczenia obejmował badanie śledzi solonych zakupionych w sklepie detalicznym. Na agar odżywczy bez dodatku NaCl oraz agar z zawartością 8% i 20% NaCl posiewano badany materiał a następnie izolowano bakterie halofilne. Ponadto określano zdolność poszczególnych wyizolowanych szczepów bakteryjnych do dekarboksylacji histydyny, postępując podobnie jak przy badaniu śledzi solonych w warunkach laboratoryjnych. Dpodłożwierajdynę (1%) i NaCl (8% i 20%) wprowadzano eżą poszczególne wyizolowane szczepy bakterii halofilnych. Po okresie inkubacji trwającej 8 dni w temperaturze pokojowej oznaczano zawartość histaminy w poszczególnych podłożach metodą spektrofluorymetryczną [2, 3].

### WYNIKI I ICH OMÓWIENIE

Wyniki badania śledzi solonych przygotowanych w warunkach laboratoryjnych wykazały, że we wszystkich badanych próbkach śledzi występowały drobnoustroje wykazujące zdolność dekarboksylacji histydyny. Poziom histaminy w podłożu, w którym namnażano wahał się od 5 do 1950  $\mu\text{g}/100$  ml przy 8% stężeniu NaCl (średnio 590  $\mu\text{g}/100$  ml) oraz od 200,0 - 1800  $\text{mg}/100$  ml (średnio 674,0  $\mu\text{g}/100$  ml) przy 20% stężeniu NaCl. (Tab. I)

Ze śledzi solonych pobranych z obrotu handlowego wyizolowano 23 szczepy bakterii halofilnych. Wszystkie wyizolowane szczepy bakterii wykazywały zdolność dekarboksylacji histydyny w warunkach doświadczalnych, zarówno przy zawartości w pożywce 8% jak i 20% NaCl. W większości przypadków w pożywkach zawierających 20% NaCl

Tabela I. Zawartość histaminy w podłożach zawierających homogenaty ze śledzi solonych przygotowanych w laboratorium.  
Content of histamine in media containing homogenates of herrings salted under laboratory conditions.

Nr. próbki	Zawartość histaminy ( $\mu\text{g}/100 \text{ ml}$ )	
	Stężenie NaCl w pożywce	
	8% NaCl	20 % NaCl
1	125	250
2	380	200
3	1950	1250
4	380	340
5	5	900
6	900	1800
7	500	400
8	480	250
Średnia	590	674

poziom histaminy był wyższy niż w podłożach z 8% dodatkiem soli kuchennej. (Tab. II).

Tabela II. Zdolność wytwarzania histaminy przez wyizolowane szczepy bakterii  
Possibilities of production of histamine by isolated strains of bacteria

Nr. próbki	Zawartość histaminy ( $\mu\text{g}/100 \text{ ml}$ )	
	Stężenie NaCl w pożywce	
	8% NaCl	20 % NaCl
1	1000	2400
2	1200	2200
3	880	2560
4	1480	4440
5	500	500
6	500	200
7	500	300
8	200	1000
9	200	500
10	400	500
11	500	650
12	500	400
13	500	400
14	460	560
15	360	540

16	340	8000
17	2220	1600
18	1140	1140
19	140	180
20	180	200
21	180	200
22	880	280
23	460	380
Średnia	640	1270

*Ganowiak* i wsp. uważają, że stężenie soli występujące w rybach solonych hamuje rozwój większości bakterii zdolnych do produkcji dekarboksylaz [4]. Jednakże obserwacje *Karnopa* [6], oparte na badaniach solonych sardeli, wskazały na możliwość tworzenia histaminy przez szczepy *Pediococcus halophilus* przy stężeniu soli przekraczającym 20% zarówno w temperaturze 20°C jak i 5°C. Wyniki niniejszej pracy są zgodne z obserwacjami tego autora, gdyż, wszystkie wyizolowane ze śledzi solonych szczepy bakterii wykazywały obecność dekarboksylazy histydyny. W związku z tym dłuższe przechowywanie śledzi solonych w temperaturze otoczenia, zwłaszcza w okresie letnim, może prowadzić do znacznego wzrostu poziomu histaminy w produkcie.

#### WNIOSKI

1. We wszystkich badanych próbkach śledzi solonych stwierdzono występowanie bakterii halofilnych wykazujących zdolność dekarboksylacji histydyny.

2. Wykazano, że wyizolowane z badanych śledzi bakterie posiadają zdolność namnażania się i wytwarzania histaminy w środowisku zawierającym zarówno 8% NaCl jak i 20% NaCl.

J. Pęconek, J. Szczawiński, M. Fonberg-Broczek,  
D. Sawilska-Rautenstrauch, B. Windyga

#### THE ROLE OF HALOPHILIC BACTERIA IN DECARBOXYLATION OF HISTIDINE IN SALTED HERRINGS

##### Summary

The purpose of this study was to determine frequency of occurrence of halotolerant and halophilic histamine-forming bacteria under laboratory conditions in salted herrings stored at 20°C for 2 months. The other aim was to isolate these bacteria both from herrings bought in a retail shop and examine the ability of decarboxylation of histidine by these microorganisms using *Karnop's* method modified by the authors. The amount of histamine formed was determined by fluorometric method. The level of histamine in media containing homogenates of herrings was in a range from 5 to 1950 µg/100 ml of a nutrient medium. All isolated bacteria belong to halotolerant and halophilic strains and produce histamine both at 8% and 20% content of NaCl in a nutrient medium. The obtained results indicate that during storage of salted herrings at ambient temperature the increase of histamine content in their flesh can occur.

## PIŚMIENNICTWO

1. *Beutling D., Pęcunek J.*: Eigenschaften halophiler Bakterien isoliert von Salzheringen. Arch. Lebensmit-Hyg. 1995, 46, 36. – 2. *Fonberg-Broczek M., Windyga B., Kozłowski J., Sawilska-Rautenstrauch D., Kahl S.*: Spektrofluorymetryczna metoda oznaczania histaminy w konserwach rybnych. Roczn. PZH, 1988, 39, 223. – 3. *Fonberg-Broczek M., Sawilska-Rautenstrauch D., Windyga B.*: Oznaczanie histaminy w konserwach rybnych metodą fluorymetryczną, przy użyciu Spekol-10 z przystawką FK do pomiarów fluorescencji. Roczn. PZH. 1991, 42, 65. – 4. *Ganowiak Z., Gajewska R., Lipka E.*: Zawartość histaminy w wybranych środkach spożywczych. Roczn. PZH. 1988, 39, 282. – 5. *Gajewska R., Lipka E., Ganowiak Z.*: Poziom histaminy i tyraminy w wybranych środkach spożywczych. Roczn. PZH. 1991, 42, 1. – 6. *Karnop G.*: Histamin in Salzsardellen. Archiv fur Lebensmittelhygiene. Arch. Lebensmit-Hyg. 1988, 39, 67. – 7. *Pęcunek J., Beutling D.*: Weitere Untersuchungen zu Eigenschaften halophiler psychrotropher Bakterien, isoliert aus der Ostsee. Arch. Lebensmit-Hyg. 1995, 46, 137. – 8. *Sikorski Z.*: Technologia żywności pochodzenia morskiego. Wydawnictwo Naukowo-Techniczne, Warszawa 1980. – 9. *Yatsunami K., Echigo T.*: Isolation of salt tolerant histamine-forming bacteria from rice-bran pickles of sardine. Bulletin of the Japanese Society of Scientific Fisheries [Nihon Suisan Gakkai-shi] 1991, 9, 1723. – 10. *Yatsunami K., Echigo T.*: Occurrence of halotolerant and halophilic histamine-forming bacteria in red meat fish products. Bull. Japan. Soc. Sci. Fish. 1992, 58, 515.

Otrzymano: 1996.11.18